

doi: 10.7541/2019.063

草鱼在摄食高能饲料后血清生化指标的动态变化

田娟^{1,2} 刘伟¹ 蒋明^{1,2} 赵京壮³ 吴凡¹ 喻丽娟¹ 陆星¹ 文华¹

(1. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 农业部淡水生物多样性保护重点实验室, 武汉 430223;

2. 淡水水产健康养殖湖北省协同创新中心, 武汉 430070; 3. 长江大学动物科学学院水产系, 荆州 434020)

摘要: 为研究草鱼(*Ctenopharyngodon idella*) 在摄食高能饲料后血清生化指标的动态变化, 选择均重为(55.0±2.5) g的健康草鱼320尾, 随机分成4组, 每组4个重复, 分别以3组高能纯化饲料(分别以额外的蛋白质、脂肪、糊精供能, 高能饲料组较对照组总能量提高11%)及对照组饲料喂养草鱼11周后, 将鱼体禁食48h后采样(对照), 再饱食投喂, 在摄食后的2h、8h和24h取样, 测定实验鱼8种血清生化指标, 并对采样时间点(T)和不同饲料(D)进行双因素方差分析。为确保实验结果的准确性, 需要保证不同处理组的采样时间同步性, 即均在餐后同一时间点采样。结果显示: 除血清总胆固醇(TCHO)含量外, 血清碱性磷酸酶(ALP)、谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)活性, 以及血清甘油三酯(TAG)、葡萄糖(GLU)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)含量均受到采样时间点(T)即餐后时间的显著影响, 饲料(D)对上述8个指标亦均有显著影响, 且两者存在交互作用。草鱼血清GLU含量和血清AST活性均在餐后2h达到峰值, 血清ALT和ALP活性以及LDL-C含量均在餐后24h达到峰值, 血清TAG含量在餐后8h达到峰值, 而血清TCHO和HDL-C含量则无明显峰值。在餐后24h, 3个高能组的ALT活性和GLU含量较对照组显著升高, 血清AST和ALP活性以及TAG、TCHO和HDL-C含量较对照组无显著差异。上述结果表明, 草鱼血清生化指标受到餐后采样时间点和饲料的显著影响。

关键词: 血清生化指标; 采样时间; 高能饲料; 草鱼

中图分类号: S965 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2019)03-0517-09

动物从外界摄取营养物质的第一目的是为了供给生命活动的能量需要, 摄入的部分营养素被用于分解代谢, 以产生能量用于同化作用以及维持生命的其他过程^[1]。在现代水产养殖中, 为了满足养殖品种快速生长的需求, 通常会采取在较短时间内给予养殖对象以过高能量的营养策略。蛋白质、碳水化合物和脂质是水产动物三种主要的能量来源, 然而饲料含过高水平的蛋白质、脂肪或碳水化合物均会影响鱼类的摄食和生长, 诱发多种鱼类发生肝脏代谢障碍(俗称“肝胆综合症”、“脂肪肝”等), 导致生理状态发生变化影响鱼体的健康^[2-5]。

血液是在心脏和血管腔内循环流动的一种极其重要的组织, 在机体里主要起运输营养物质、防御和免疫、维持内环境稳定、参与体液调节等作

用, 故血液指标值能反映动物的健康状态^[6]。对于鱼类而言, 血液生理生化指标的变动范围较大, 其结果受内源或外源多种因素共同作用的影响, 如年龄、性别、繁殖、食性等内源性因素和饵料、溶氧、温度、养殖方式、疾病等外源性因子等^[7, 8]。在鱼类营养学研究中, 发现鱼类血液生化指标与机体的摄食、营养状况、饲料组成、饲料源等密切相关^[9-15], 但同时发现鱼类血液指标参数并不稳定, 难以通过测定血液指标得出准确的实验结论。因此本实验试图测定餐后不同时间点的生化指标, 进行动态监测, 从而更准确地研究饲料组成对血液指标造成的影响。草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)作为我国养殖产量第一的淡水鱼类, 被广泛用于鱼类营养学及营养性疾病学的研究^[16-18]。本实验以3组

收稿日期: 2018-05-30; **修订日期:** 2019-02-03

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31702361); 中国水产科学研究院基本科研业务费(2017JBF0202); 长江大学大学生创新创业训练计划(2017085)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31702361); Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS (2017JBF0202); Training Program of Innovation and Entrepreneurship for Undergraduates of Yangtze University (2017085)]

作者简介: 田娟(1983—), 女, 湖北蕲春人; 博士; 主要从事水产动物营养研究。E-mail: tianjuan@yfi.ac.cn

通信作者: 文华(1965—), 男, 湖北公安人; 博士; 主要从事水产营养与饲料。E-mail: wenhua.hb@163.com

高能纯化饲料及对照组饲料喂养草鱼幼鱼11周, 采取餐后4个时间点的血液样品, 测定8种常见的与糖脂代谢相关的血液指标, 旨在研究高能量饲料对草鱼血清生化指标的影响, 为准确测定鱼类血液指标提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验饲料

据报道草鱼幼鱼饲料适宜的蛋白质、脂肪、糖含量分别为30%—35%^[19]、6%—7.5%^[20]、不超过33%^[21], 蛋能比为19.5 mg/kJ^[22]。在本实验中, 以酪蛋白和明胶作为蛋白源, 以玉米油和大豆油(质量比1:1)作为脂肪源, 糊精为糖源, 设计的对照组饲料(CON)中含30%的蛋白质、8%的脂肪、36%的糊精, 以满足草鱼幼鱼在生长和非特异性免疫方面的需求。另外设计了3组高能饲料, 分别是高蛋白组(HP)、高脂肪组(HF)和高碳水化合物组(HC)。3组高能饲料较对照组饲料配方, 含更高的蛋白质、脂肪和碳水化合物, 其总能较对照组提高11%, 具体实验饲料配方和营养成分如表1所示。所有原料经超微粉碎机粉碎后过孔径0.3 mm的网, 将粉料充分混匀, 最后加豆油、玉米油和25%的水进行调和, 用模孔直径为2 mm的绞肉机挤压成条状, 置于50℃烘箱中烘干, 然后破碎成长度为3 mm左右的颗粒饲料, 置于-20℃冰柜中冷藏备用。

1.2 实验鱼与饲养管理

实验用草鱼取自长江水产研究所苗种繁育场。在实验鱼运回后, 用聚维酮碘进行消毒, 然后在循环水养殖系统中暂养2周, 暂养期间以对照组饲料饲喂, 以使其适应实验饲料和实验环境。实验开始前将实验鱼饥饿24h, 选取体质健壮、规格整齐、初始体质量为(55.0±2.5) g的实验鱼320尾, 用80 mg/L水的MS-222麻醉后称重, 养殖于16个封闭式循环水养殖桶中(直径85 cm, 水深70 cm, 水体体积约400 L), 每桶20尾, 将16个桶随机分成4组, 每组设4个重复, 分别饲喂4种实验饲料。根据鱼体生长、摄食和水温等环境状况及时调整投饲量, 确保鱼体抢食并尽量不出现残饵, 每天表观饱食投喂3次(08:30—09:00、12:30—13:00、17:00—17:30), 投饲率3%—5%。每日记录水温、草鱼摄食行为和死亡数量等, 每天换水1/3。养殖期间室温(12—22)℃, 水温(25—28)℃, 溶氧质量浓度大于5 mg/L, pH 6.8—7.3, 氨氮质量浓度小于0.05 mg/L。共计饲养11周。

1.3 样品采集

为避免多次放水捞鱼又补充新水所造成的水温差和多次捕捞操作对试验鱼造成的应激, 影响检测结果, 本试验采样时进行以下操作: 在11周养殖实验结束时, 先将每个养殖桶的试验鱼全部捞出, 使用MS-222麻醉后, 从中随机挑选8尾, 平均放入另外4个养殖桶中; 同一处理组的4个养殖桶均进行

表1 实验饲料组成和基本分析

Tab. 1 Composition and proximate analysis of the experimental diets

原料成分Ingredient	饲料Dietary (g/kg diet)			
	CON	HP	HF	HC
酪蛋白Casein	280	380	280	280
明胶Gelatin	70	95	70	70
豆油和玉米油Soybean oil and corn oil (1:1)	80	80	140	80
糊精Dextrin	356.5	356.5	356.5	486.5
纤维素Cellulose	151	26	91	20
复合维生素Vitamin premix ¹	10	10	10	10
复合矿物质Mineral premix ¹	50	50	50	50
氯化胆碱Choline chloride	2.5	2.5	2.5	2.5
合计Total	1000	1000	1000	1000
基本营养成分Proximate composition (g/kg diet)				
干物质Dry matter	948.5	945.2	961.6	948.8
粗蛋白Crude protein	302.3	418.1	298.2	308.2
粗脂肪Crude lipid	76.7	76.1	135.4	78.1
灰分Ash	48.5	50.5	48.2	49.1
总能Gross energy (kJ/g) ²	17.2	19.4	19.9	19.1

注: 1. 复合维生素和复合矿物质配方参照田娟等^[23]的实验; 2. 饲料总能用氧胆量热仪测定(SDC311, 湖南三德科技股份有限公司)

Note: 1. The vitamin and mineral premix followed previous study by Tian, *et al.*^[23]; 2. Energy was determined by direct combustion in an adiabatic bomb calorimeter (SDC311, Hunan Sundry Science and Technology Development Co., Ltd, Changsha, Hunan Province, China)

相同操作;操作完成后每个养殖桶中养殖8尾鱼,来自原来同一处理组的4个平行,即每个平行提供2尾,用于后续4个时间点的取样。将实验鱼禁食48h,确保水温和鱼体健康状况正常,从每组的4个养殖桶中随机选取1个桶,将桶中的8尾实验鱼捞出,麻醉后置于冰盘上采用尾静脉采血,此次采样被定义为对照样本(完全饥饿状态)。剩余的养殖桶,用对应的处理组饲料饱食投喂1次,然后分别在喂食后的2h、8h和24h三个时间点按上述采样方法各采集血液1次,将采集的血液样品在4℃静置5h后,3000 r/min离心15min,取上清贮存于-80℃冰箱中待检测血清指标。

1.4 测定方法

每一处理组共计取血清8管,每管取200 μL血清置于比色杯中,然后按照希森美康全自动生化分析仪(CHEMIX-800)的操作方法进行测定,所用试剂均购自Sysmex公司。血清甘油三酯(TAG)、总胆固醇(TCHO)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)含量分别采用ADP-HK、COD-POD、CDH-UV法测定,血清低密度脂蛋白胆固醇(LDL)含量采用终点法,葡萄糖(GLU)含量采用己糖激酶法测定,谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)分别采用门冬氨酸氨基转移酶测试法(MDH-UV)、丙氨酸氨基转移酶测试法(LDH-UV)、对硝基苯磷酸(p-NPP)法。

1.5 数据统计与分析

所得实验数据以平均值±标准差(Mean±SD, $n=8$)表示,实验结果用SPSS17进行统计与分析,运用一般线性模型单变量进行双因素分析,采用Tukey's进行多重比较检验。对采样时间点(T)和不同饲料(D)进行双因素方差分析,检测了采样时间点(T)和饲料(D)对测定指标的主要影响,以及它们的交互作用。同一处理组在不同采样时间点的差异用字母“x, y, z”表示,同一采样时间点不同处理组间的差异用字母“a, b, c, d”表示, $P<0.05$ 即认为存在显著性差异,运用OriginLab 8.0软件进行绘图。

2 结果

2.1 草鱼在摄食高能饲料后血清谷草转氨酶活性的动态变化

如图1所示,草鱼血清AST活性受到采样时间点和不同饲料的显著影响($P<0.05$),且两者存在交互作用。草鱼AST活性在餐后2h达到峰值,且在2h时3个高能组AST活性均较对照组显著升高($P<0.05$),而在24h时各实验组AST活性无显著差异($P>0.05$)。HC和HF组AST活性随餐后时间延长下

降,且餐后8h和24h较对照和2h差异显著($P<0.05$)。HP组在2h时出现最大值,8h降低到最低值,24h恢复到初始值。

2.2 草鱼在摄食高能饲料后血清谷丙转氨酶活性的动态变化

草鱼幼鱼血清谷丙转氨酶的变化如图2所示,采样时间点和不同饲料均显著影响草鱼血清ALT活性($P<0.05$),且两者对其存在交互作用。草鱼ALT活性在餐后24h达到峰值,且在24h时3个高能组ALT活性较对照组均显著升高($P<0.05$)。CON组ALT活性在4个采样时间点无显著差异($P>0.05$)。HC和HF组ALT活性随餐后时间延长而升高,且餐后8h和24h较0和2h差异显著($P<0.05$);HP组在24h时出现最大值,且较其他采样时间点显著升高($P<0.05$)。

2.3 草鱼在摄食高能饲料后血清碱性磷酸酶活性的动态变化

如图3所示,采样时间点和不同饲料均显著影

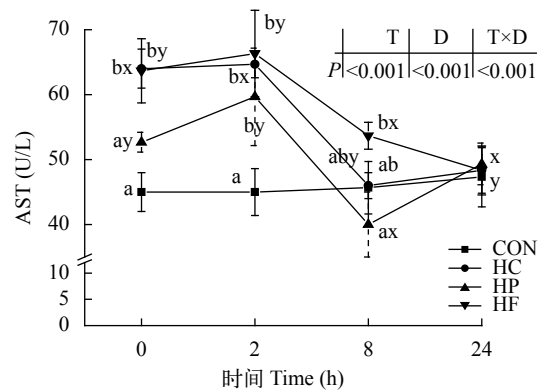


图1 高能量饲料对草鱼餐后血清谷草转氨酶活性的影响
Fig. 1 Effect of high-energy diets on postprandial AST activities in serum of grass carp

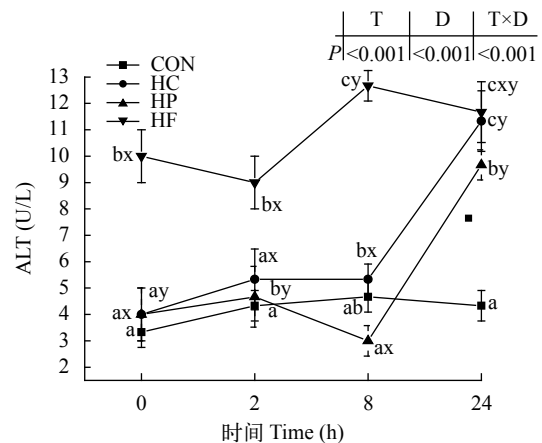


图2 高能量饲料对草鱼餐后血清谷丙转氨酶活性的影响
Fig. 2 Effect of high-energy diets on postprandial ALT activities in serum of grass carp

响草鱼血清ALP活性($P < 0.05$), 且两者对其存在交互作用。4个实验组的草鱼餐后血清ALP在餐后24h达到峰值, 但各组间无显著差异($P > 0.05$)。在餐后8h, 3个高能组较对照组显著升高($P < 0.05$)。HC和HP组ALP活性在4个采样时间点无显著差异($P > 0.05$)。HF实验组在0和2h时无显著差异($P > 0.05$), 随后开始上升, 在8h时达到峰值, 8h和24h较0和2h显著升高($P < 0.05$)。CON组0h和24h ALP活性较2h和8h显著升高($P < 0.05$)。

2.4 草鱼在摄食高能饲料后血清胆固醇含量的动态变化

血清胆固醇含量在各实验组的变化如图4所示, 不同饲料显著影响草鱼血清TCHO含量($P < 0.05$), 采样时间点对其无显著影响($P > 0.05$), 但两者对血清TCHO含量存在交互作用。4个处理组的TCHO含量无明显的峰值时间点, CON组和HF血清TCHO含量餐后波动不明显, 4个采样时间点无显著性差异($P > 0.05$)。HC和HP组变化趋势相同, 0时

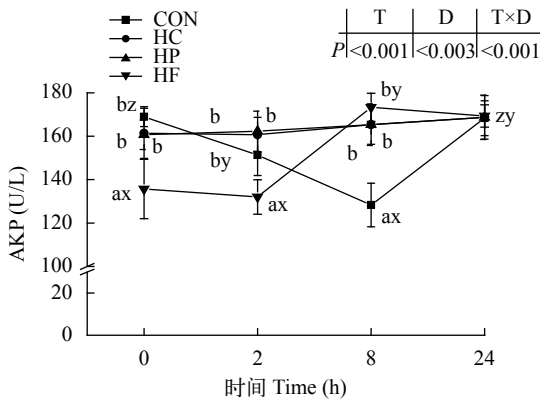


图3 高能饲料对草鱼餐后血清碱性磷酸酶活性的影响

Fig. 3 Effect of high-energy diets on postprandial ALP activities in serum of grass carp

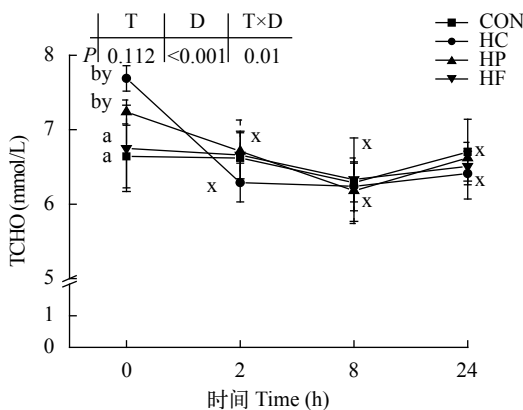


图4 高能饲料对草鱼餐后血清胆固醇含量的影响

Fig. 4 Effect of high-energy diets on postprandial TCHO contents in serum of grass carp

含量最高, 其他3个时间点较0h显著降低($P < 0.05$)。在0时, HC组和HP组较CON组和HF组显著升高($P < 0.05$); 其他3个采样时间点, 4个处理组间无显著差异($P > 0.05$)。

2.5 草鱼在摄食高能饲料后血清高密度脂蛋白胆固醇含量的动态变化

草鱼幼鱼血清高密度脂蛋白胆固醇的含量变化如图5所示, 采样时间点和不同饲料均显著影响草鱼血清HDLc含量($P < 0.05$), 且两者对其存在交互作用。血清HDLc含量的变化与CHO相似。CON组和HF组餐后4个时间点无明显变化。HC组和HF组, 0时含量显著高于其他3个时间点($P < 0.05$)。在0h时, HC组和HP组较CON组和HF组显著升高($P < 0.05$)。

2.6 草鱼在摄食高能饲料后血清低密度脂蛋白胆固醇含量的动态变化

如图6所示, 采样时间点和不同饲料均显著影响草鱼血清LDLc含量($P < 0.05$), 且两者对其存在交互作用。

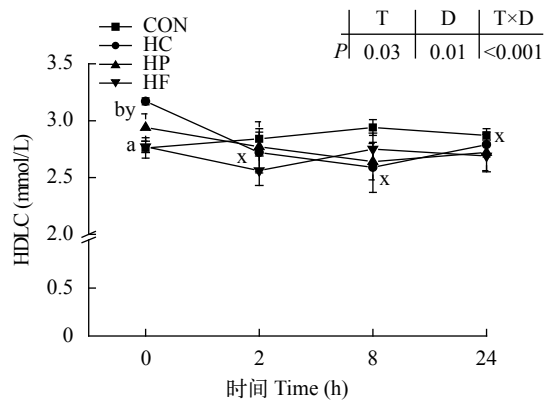


图5 高能饲料对草鱼餐后血清高密度脂蛋白胆固醇含量的影响

Fig. 5 Effect of high-energy diets on postprandial HDLc contents in serum of grass carp

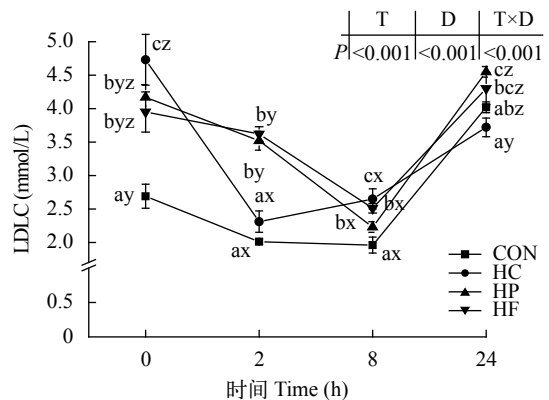


图6 高能饲料对草鱼餐后血清低密度脂蛋白胆固醇含量的影响

Fig. 6 Effect of high-energy diets on postprandial LDLc contents in serum of grass carp

互作用。4个实验组的草鱼餐后血清LDLC含量在餐后24h达到峰值, 24h时HP组较对照组显著降低($P<0.05$); 在餐后2h和8h, 4个处理组均较0h显著降低, 且在0h时和8h时3个高能组LDLC含量均较对照组显著升高($P<0.05$)。

2.7 草鱼在摄食高能饲料后血清葡萄糖含量的动态变化

如图7所示, 采样时间点和不同饲料均显著影响草鱼血清GLU含量($P<0.05$), 且两者对其存在交互作用。草鱼血清GLU含量在餐后2h达到峰值。较对照组, HC组在2h时显著升高, HF组显著降低($P<0.05$), HP组无显著差异($P>0.05$)。在餐后0h, 3个高能组均较对照组显著降低, 而餐后8h和24h均较对照组显著升高($P<0.05$)。餐后8h和24h, 4个处理组内的血糖含量趋于稳定, 未出现明显差异($P>0.05$)。

2.8 草鱼在摄食高能饲料后血清甘油三酯含量的动态变化

血清甘油三酯含量的变化如图8所示, 采样时间点和不同饲料均显著影响草鱼血清TAG含量($P<0.05$), 且两者对其存在交互作用。草鱼血清TAG含量在餐后8h达到峰值。在0h, HP组较对照组显著降低, HC组和HF组显著升高($P<0.05$)。在2h和8h时HC和HF组TAG含量均较对照组显著升高($P<0.05$), 而HP组无显著差异($P>0.05$)。在24h, 4个处理组间无显著差异($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 采样时间点对草鱼血清生化指标的影响

鱼类血液指标被广泛运用于评价鱼体健康和营养状况。在本实验中, 摄食不同饲料的草鱼幼鱼在禁食48h后, 再重新摄食相应饲料, 除血清TCHO

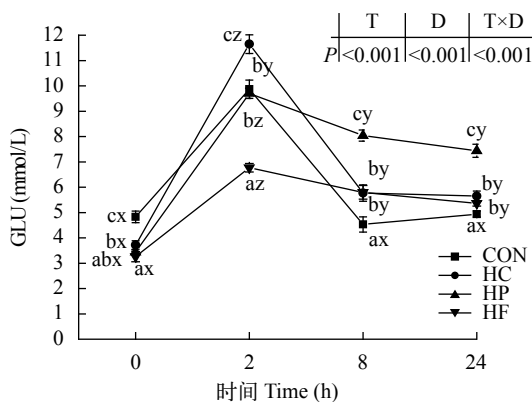


图7 高能饲料对草鱼餐后血清葡萄糖含量的影响

Fig. 7 Effect of high-energy diets on postprandial GLU contents in serum of grass carp

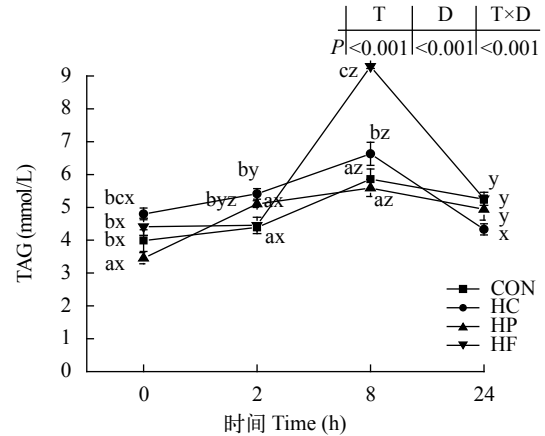


图8 高能饲料对草鱼餐后血清甘油三酯含量的影响

Fig. 8 Effect of high-energy diets on postprandial TAG contents in serum of grass carp

外, 血清AST、ALT和ALP活性, 以及血清HDL、LDLC、GLU和TAG含量均受到采样时间点即餐后时间的显著影响, 且餐后时间与饲料存在交互作用; 草鱼血糖和血清AST活性均在餐后2h达到峰值, 血清ALT和ALP活性以及LDLC含量均在餐后24h达到峰值, 血清TAG含量在餐后8h达到峰值, 而血清TCHO和HDL含量则无明显峰值。在对大菱鲆(*Psetta maxima*)^[24]和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[25]的研究中均发现, 血浆氨基酸含量与采样时间显著相关。奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*)血浆AST和ALT活性同样受到采样时间点的影响^[26]。在吉富罗非鱼(GIFT, *Oreochromis niloticus*)、卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)、军曹鱼(*Rachycentron canadum*)中均发现, 鱼类血糖在餐后1—3h达到峰值, 且高糖组的血糖含量较糖组显著升高^[12]。在饲喂罗非鱼中、高脂肪水平饲料后, 血糖峰值出现在6h, 血清TAG峰值出现在餐后12h, 而TCHO的峰值受到饲料脂肪水平的影响^[27]; 在另一个对罗非鱼的研究中发现, 在注射葡萄糖后血浆TAG水平快速上升, 在3h后达到峰值^[12]。这些结果均表明鱼类摄食后, 营养物质在体内进行吸收、消化、代谢后, 部分血液生化指标会迅速升高, 达到某个峰值, 然后下降; 峰值的高低与饲料组成有关, 也暗示部分血液指标随采样时间点的不同出现动态变化, 且餐后时间与饲料存在交互作用, 这提示研究者在进行鱼类血液指标检测时, 需要保证不同处理组的采样时间同步性, 即均在餐后同一时间点采样, 否则将因采样时间点的不同出现假阳性差异。

3.2 高能饲料对草鱼血清生化指标的影响

在已有的对鱼类血液学的研究报道中, 通常检测饥饿24h的鱼体血液生化指标, 因此为了所讨论

的结果具有可比性,此部分仅讨论本研究的24h实验结果。血清AST和ALT活性是反应肝功能的灵敏指标^[28]。在本实验中,3个高能组ALT活性显著高于对照组,而AST活性在餐后24h,4个处理组间无显著差异。郭小泽等在草鱼上研究发现摄食高脂饲料(饲料脂肪含量8.2%)后,血清AST和ALT活性较对照组(饲料脂肪含量3.1%)无显著差异^[10];而汪开毓等^[29]研究发现高脂组(饲料脂肪含量8.1%)草鱼血清中AST、ALT活性极显著高于对照组(饲料脂肪含量4.6%),罗非鱼中亦得到类似结果^[11];在罗非鱼幼鱼上亦发现血清中AST和ALT活性随饲料碳水化合物水平的升高而升高(饲料能量随碳水化合物水平的升高而升高)^[30,31],高糖饲料亦显著提高了草鱼这2种转氨酶活性^[10];但高蛋白饲料不影响星斑川鲈幼鱼(*Platichthys stellatus*, Pallas 1788)血浆这2种转氨酶活性^[32]。这说明对于不同鱼类高水平的脂肪和碳水化合物可能均会导致血清转氨酶活性的升高,对草鱼肝功能造成一定损伤,但损伤程度与饲料配方和养殖对象有关。

ALP活性与机体的营养免疫状态有关,是体内的一种解毒酶。在正常情况下,血清中ALP活性较低,当肝脏或骨骼发生病变时,血清中ALP酶活性会升高^[33]。在本实验中,餐后24h,4个处理组的草鱼幼鱼血清ALP活性无显著差异。同样在草鱼上的研究发现高脂饲料不影响血清ALP活性,但高糖饲料显著提高了ALP活性^[10];缪凌鸿等^[34]在研究中发现高碳水化合物水平饲料对异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)血浆ALP活性无显著影响;而随着饲料中脂肪含量的增加,罗非鱼血浆中ALP活性逐渐升高^[11];高蛋白饲料同样不影响星斑川鲈幼鱼血浆ALP活性^[32]。这些结果的差异,可能与机体的免疫状态有关,需要通过测免疫指标进一步阐述其机理。

葡萄糖为机体各组织行使生理功能提供能源,鱼类血糖浓度受到饮食、应激、气候、药物等的影响,并受神经、内分泌激素等调节^[7]。同时鱼类对糖的耐受性较差,在摄食后,会迅速出现高血糖现象。在本实验中,餐后2h血糖浓度达到峰值。餐后24h,3个高能组的血糖含量显著高于对照组。研究者报道高碳水化合物饲料会导致罗非鱼、卵形鲳鲹、军曹鱼、翘嘴红鲌(*Erythroculter ilishaeformis* Bleeker)、南方鲇幼鱼(*Silurus meridionalis* Chen)和厚唇弱棘鲷(*Hephaestus fuliginosus*)等血糖浓度升高^[12,35-37]。高脂饲料亦会导致罗非鱼^[38]、黄姑鱼(*Nibea albiflora* Richardson)^[39]血糖浓度升高。这些结果说明鱼类血糖浓度的升高可能是为了快速代谢所摄入的过多糖或脂肪。

鱼类血脂(包括TAG、TCHO、HDLC和LDLC等)水平的变化与机体的新陈代谢、生理状况密切相关,被广泛地用来评价鱼体的脂肪代谢能力。在本实验中,餐后24h,血清TAG、TCHO和HDLC含量4个处理组间均无显著差异,仅HP组血清LDLC含量较对照组显著降低。郭小泽等^[10]发现高糖和高脂饲料均会显著提高血清TAG和TCHO含量;汪开毓等^[29]研究发现高脂组草鱼血清TAG和TCHO的含量均显著高于低脂组。同时在长期摄食高糖或者高脂饲料后,罗非鱼餐后24h血清TAG和TCHO含量均较对照组显著升高^[12,27,31]。前人的研究报告,总体上得出高糖或高脂饲料会提高鱼体血液中TAG和TCHO含量,这些结果与本实验在24h的结果存在差异,但TAG结果与本实验在8h的结果一致。本文认为这可能与鱼类本身的消化吸收能力和代谢速率有关,草鱼的肠道排空时间为12h^[40],罗非鱼为18h^[41],而大部分肉食性或杂食性鱼类的胃肠排空时间超过24h,如大西洋鲑(*Salmo salar* L.)餐后24h肠道仍然存在少量内容物,餐后48h才开始消化完毕^[42],虹鳟为28—29h^[43]。这也进一步说明在进行鱼类血液生化指标分析时,需要考虑水产动物的血液指标受到多种因素的影响,其在发生动态变化,因此,为了得出更准确的结论,一方面需要用其他指标对血液生化指标所得出的结论进一步进行验证,另一方面应考虑不同鱼本身的代谢特性。

4 结论

草鱼血清生化指标受到餐后采样时间点和饲料的显著影响,为确保实验结果的准确性,需要保证不同处理组的采样时间同步性,即均在餐后同一时间点采样,同时需要用其他指标对血液生化指标所得出的结论进一步进行验证。

参考文献:

- [1] John R P, Parkinson E A. Energy Allocation Strategy in Young Fish: Allometry and Survival [M]. 2001, 1040—1051
- [2] Lin D, Mao Y, Cai F. Nutritional lipid liver disease of grass carp *Ctenopharyngodon idullus* (C. et V.) [J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 1990, 8(4): 363—373
- [3] Du Z Y. Causes of fatty liver in farmed fish: a review and new perspectives [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(9): 1628—1638 [杜震宇. 养殖鱼类脂肪肝成因及相关思考. 水产学报, 2014, 38(9): 1628—1638]
- [4] Watanabe T. Strategies for further development of aqua-

- tic feeds [J]. *Fisheries Science*, 2002, **68**(2): 242—252
- [5] Tocher D R. Metabolism and functions of lipids and fatty acids in teleost fish [J]. *Reviews in Fisheries Science*, 2003, **11**(2): 107—184
- [6] Chen Y J. The function of blood [J]. *Journal of Yuxi Normal University*, 1993, **3**: 46—50 [陈毅坚. 血液的功能. 玉溪师范学院学报, 1993, **3**: 46—50]
- [7] Zhu X L, Jia L Z, Zhang M Y. Haematological studies on the grass carp I. year-round changes in nine haematological parameters [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1985, **9**(3): 248—257 [朱心玲, 贾丽珠, 张明瑛. 草鱼血液学的研究 I. 九项血液常数的周年变化. 水生生物学报, 1985, **9**(3): 248—257]
- [8] Chen J, Xiong B X, Gu Q H, *et al.* The effect of endogenous and environment factors on hematology physiological and biochemical indices of fish [J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2011, **50**(9): 1861—1865 [陈洁, 熊邦喜, 顾钱洪, 等. 内源及外源因子对鱼类血液生理生化指标的影响. *湖北农业科学*, 2011, **50**(9): 1861—1865]
- [9] Wang A M, Han G M, Feng G N, *et al.* Effects of dietary lipid levels on growth performance, nutrient digestibility and blood biochemical indices of gift tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2011, **35**(1): 80—87 [王爱民, 韩光明, 封功能, 等. 饲料脂肪水平对吉富罗非鱼生产性能、营养物质消化及血液生化指标的影响. 水生生物学报, 2011, **35**(1): 80—87]
- [10] Guo X Z, Liang X F, Fang L, *et al.* Effects of non-protein energy sources on serum biochemical indices and histology of liver in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, **38**(3): 582—587 [郭小泽, 梁旭方, 方刘, 等. 饲料中非蛋白能量源对草鱼血清生化指标和肝脏组织的影响. 水生生物学报, 2014, **38**(3): 582—587]
- [11] Liang Y J, Sun Y S, Su J T, *et al.* Effects of different lipid levels on growth and haematological biochemistry in juvenile tilapia (*Oreochromis niloticus*×*Oreochromis aureus*) [J]. *Freshwater Fisheries*, 2012, **42**(5): 49—53 [梁拥军, 孙砚胜, 苏建通, 等. 饲料脂肪水平对锦鲤幼鱼生长和血液生化指标的影响. *淡水渔业*, 2012, **42**(5): 49—53]
- [12] Liu H Y, Mao Y B, Tan B P, *et al.* The effects of dietary lipid levels on growth and blood biochemical indices of *Cyprinus carpio* L [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, **39**(12): 1852—1862 [刘泓宇, 毛义波, 谭北平, 等. 饲料糖水平对不同食性鱼类生长及葡萄糖耐受能力的影响. 水产学报, 2015, **39**(12): 1852—1862]
- [13] Tian J, Wen H, Zeng L B, *et al.* Changes in the activities and mRNA expression levels of lipoprotein lipase (LPL), hormone-sensitive lipase (HSL) and fatty acid synthetase (FAS) of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) during fasting and re-feeding [J]. *Aquaculture*, 2013, **400—401**: 29—35
- [14] Xiang X, Chen J, Zhou X H, *et al.* Effects of five lipid sources on growth performance and serum biochemical indices of *Schizothorax prenanti* [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2010, **22**(2): 498—504 [向泉, 陈建, 周兴华, 等. 5种脂肪源对齐口裂腹鱼生长性能及血清生化指标的影响. *动物营养学报*, 2010, **22**(2): 498—504]
- [15] Liu W, Wen H, Jiang M, *et al.* Effects of mixed feeding schedules with two dietary protein levels on growth performance, body composition and serum biochemical indexes of juvenile hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀×*O. aureus* ♂) [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2013, **34**(3): 405—410 [刘伟, 文华, 蒋明, 等. 2种蛋白水平的饲料循环投喂对奥尼罗非鱼幼鱼生长、体成分和血清生化指标的影响. 华南农业大学学报, 2013, **34**(3): 405—410]
- [16] Ji H, Li J. Research progress in lipid nutrition and feed of grass carp [J]. *Feed Industry*, 2010, **s1**: 50—54 [吉红, 李杰. 草鱼脂质营养与饲料学研究进展. *饲料工业*, 2010, **s1**: 50—54]
- [17] Liu X W, Zhang H T. The Advances of nutrition physiology in grass carp [J]. *Feed Review*, 2013, (2): 20—24 [刘兴旺, 张海涛. 草鱼营养生理研究进展. *饲料博览*, 2013, (2): 20—24]
- [18] Feng S H, Mi H F, Liu Y L, *et al.* The Advances of carbohydrate utilization in grass carp [J]. *China Feed*, 2016, (5): 25—28 [冯硕恒, 米海峰, 刘迎隆, 等. 草鱼对饲料中碳水化合物利用的研究进展. *中国饲料*, 2016, (5): 25—28]
- [19] Köprücü K. Effects of dietary protein and lipid levels on growth, feed utilization and body composition of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Journal of Fisheries Sciences*, 2012, **6**(3): 377—380
- [20] Jin Y, Tian L X, Zeng S L, *et al.* Dietary lipid requirement on non-specific immune responses in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, **34**(5): 1202—1208
- [21] Tian L X, Liu Y J, Feng J, *et al.* Effect of different types of starch on growth, the deposition of mesenteric fat and body composition of *Ctenopharyngodon idellus* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, **26**(3): 247—251 [田丽霞, 刘永坚, 冯健, 等. 不同种类淀粉对草鱼生长、肠系膜脂肪沉积和鱼体组成的影响. 水产学报, 2002, **26**(3): 247—251]
- [22] Tian J, Gao P, Jiang M, *et al.* Effect of dietary protein to energy ratios on growth performance, protein efficiency and body composition of juvenile *Ctenopharyngodon*

- idellus* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2016, **46**(4): 83—90 [田娟, 高攀, 蒋明, 等. 饲料蛋白能量比对草鱼幼鱼生长性能、蛋白利用和体成分的影响. *淡水渔业*, 2016, **46**(4): 83—90]
- [23] Tian J, Liu W, Gao W, *et al.* Molecular cloning and gene/protein expression of FAT/CD36 from grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) and the regulation of its expression by dietary energy [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2017, **43**(3): 875—888
- [24] Xu D, He G, Mai K, *et al.* Postprandial nutrient-sensing and metabolic responses after partial dietary fishmeal replacement by soyabean meal in turbot (*Scophthalmus maximus* L.) [J]. *British Journal of Nutrition*, 2016, **115**(3): 379—388
- [25] Karlsson A, Eliason E J, Mydland L T, *et al.* Postprandial changes in plasma free amino acid levels obtained simultaneously from the hepatic portal vein and the dorsal aorta in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2006, **209**(24): 4885—4894
- [26] Leng X J, Tian J, Chen B A, *et al.* Comparison study on utilizing crystalline or coated methionine by tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, **37**(2): 235—242 [冷向军, 田娟, 陈丙爱, 等. 罗非鱼对晶体蛋氨酸, 包膜蛋氨酸利用的比较研究. *水生生物学报*, 2013, **37**(2): 235—242]
- [27] Wang A M, Han G M, Lü F, *et al.* Effects of dietary lipid levels on blood lipid, glucose indexes of GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Journal of Yancheng Institute of Technology (Natural Science Edition)*, 2011, **24**(3): 9—14 [王爱民, 韩光明, 吕富, 等. 饲料脂肪水平对吉富罗非鱼幼鱼摄食后血脂、血糖的影响. *盐城工学院学报(自然科学版)*, 2011, **24**(3): 9—14]
- [28] Ma X L, Chen W, Jin R B. Study of examination of liver function following liver injury [J]. *Journal of Traumatic Surgery*, 2003, **5**(1): 20—22 [麻晓林, 陈伟, 金榕兵. 肝损伤后检测肝功能指标的实验研究. *创伤外科杂志*, 2003, **5**(1): 20—22]
- [29] Wang K Y, Miao C H, Huang H L, *et al.* Changes in main biochemical indices and Acetyl-CoA carboxylase 1 mRNA expression of grass carp fed a high-fat diet [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, **24**(12): 2375—2383 [汪开毓, 苗常鸿, 黄锦炉, 等. 投喂高脂饲料后草鱼主要生化指标和乙酰辅酶A羧化酶1 mRNA表达的变化. *动物营养学报*, 2012, **24**(12): 2375—2383]
- [30] Wu F, Wen H, Jiang M, *et al.* Effects of different dietary carbohydrate level on growth performance and blood biochemical parameters of juvenile GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2012, **40**(12): 8—14 [吴凡, 文华, 蒋明, 等. 饲料碳水化合物水平对吉富罗非鱼幼鱼生长性能和血液主要生化指标的影响. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2012, **40**(12): 8—14]
- [31] Wu F, Wen H, Jiang M, *et al.* Effects of different dietary carbohydrate levels on growth performance, body composition and serum biochemical indices of juvenile hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* ♀ × *O. aureus* ♂) [J]. *Journal of South China Agricultural University*, 2011, **32**(4): 91—95 [吴凡, 文华, 蒋明, 等. 饲料碳水化合物水平对奥尼罗非鱼幼鱼生长, 体成分和血清生化指标的影响. *华南农业大学学报*, 2011, **32**(4): 91—95]
- [32] Ding L Y, Zhang L M, Wang J Y, *et al.* Effects of dietary protein level on growth performance, body composition and plasma biochemistry indices of juvenile starry flounder, *Platichthys stellatus* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2010, **17**(6): 1285—1292 [丁立云, 张利民, 王际英, 等. 饲料蛋白水平对星斑川鲷幼鱼生长、体组成及血浆生化指标的影响. *中国水产科学*, 2010, **17**(6): 1285—1292]
- [33] Zhang H, Zhang H L. The role of alkaline phosphatase in aquatic animals [J]. *Hebei Fisheries*, 2003, **5**: 12—13—32 [张辉, 张海莲. 碱性磷酸酶在水产动物中的作用. *河北渔业*, 2003, **5**: 12—13—32]
- [34] Miao L H, Liu B, Ge X P, *et al.* Effect of high carbohydrate levels in the dietary on growth performance, immunity and transmission electron microscopy (TEM) on hepatic cell of allogynogenetic crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, **35**(2): 221—230 [缪凌鸿, 刘波, 戈贤平, 等. 高碳水化合物水平日粮对异育银鲫生长、生理、免疫和肝脏超微结构的影响. *水产学报*, 2011, **35**(2): 221—230]
- [35] Ge X P, Liu B, Xie J, *et al.* Effect of different carbohydrate levels of dietary on growth, plasma biochemical indices and hepatic pancreas carbohydrate metabolic enzymes in topmouth culter (*Erythroculter ilishaeformis* Bleeker) [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2007, **30**(3): 88—93 [戈贤平, 刘波, 谢骏, 等. 饲料中不同碳水化合物水平对翘嘴红鲌生长及血液指标和糖代谢酶的影响. *南京农业大学学报*, 2007, **30**(3): 88—93]
- [36] Lin X Z, Luo Y P, Xie X J. Effects of dietary carbohydrate level on glycolytic enzymes and serum glucose concentrations in the juvenile southern catfish after feeding [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, **30**(3): 304—310 [林小植, 罗毅平, 谢小军. 饲料碳水化合物水平对南方鲇幼鱼餐后糖酵解酶活性及血糖浓度的影响. *水生生物学报*, 2006, **30**(3): 304—310]
- [37] Song L P, Han B, Wang A Y, *et al.* The effects of dietary carbohydrate levels on growth performance and plasma

- biochemical indices in *Hephaestus fuliginosus* [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2010, **25**(4): 293—297 [宋理平, 韩勃, 王爱英, 等. 碳水化合物水平对厚唇弱棘鲷生长和血液指标的影响. *大连海洋大学学报*, 2010, **25**(4): 293—297]
- [38] Tian J, Wu F, Yang C G, *et al.* Dietary lipid levels impact lipoprotein lipase, hormone-sensitive lipase, and fatty acid synthetase gene expression in three tissues of adult GIFT strain of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2015, **41**(1): 1—18
- [39] Ye K, wang Q R, Xie Y J, *et al.* Effects of dietary lipid level on growth performance, muscle composition and plasma biochemical indices of juvenile *Nibeia albiflora* [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2017, **29**(4): 1418—1426 [叶坤, 王秋荣, 谢仰杰, 等. 饲料脂肪水平对黄姑鱼幼鱼生长性能、肌肉组成和血浆生化指标的影响. *动物营养学报*, 2017, **29**(4): 1418—1426]
- [40] Du Z Y. Consequences of fat feeding on growth and body lipids in a herbivorous fish (grass carp, *Ctenopharyngodon idella*): mechanisms related to fatty acid oxidation [D]. Sun Yat-sen University. 2005, 23—41 [杜震宇. 草鱼对脂肪的利用和对脂肪酸 β -氧化的研究. 中山大学. 2005, 23—41]
- [41] Riche M, Haley D I, Oetker M, *et al.* Effect of feeding frequency on gastric evacuation and the return of appetite in tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) [J]. *Aquaculture*, 2004, **234**(1): 657—673
- [42] Sveier H, Wathne E, Lied E. Growth, feed and nutrient utilisation and gastrointestinal evacuation time in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): the effect of dietary fish meal particle size and protein concentration [J]. *Aquaculture*, 1999, **180**(3): 265—282
- [43] Fauconneau B, Choubert G, Blanc D, *et al.* Influence of environmental temperature on flow rate of foodstuffs through the gastrointestinal tract of rainbow trout [J]. *Aquaculture*, 1983, **34**(1): 27—39

EFFECTS OF HIGH ENERGY DIETS ON SERUM BIOCHEMICAL INDICES OF GRASS CARP (*CTENOPHARYNGODON IDELLA*)

TIAN Juan^{1,2}, LIU Wei¹, JIANG Ming^{1,2}, ZHAO Jiang-Zhuang³, WU Fan¹, YU Li-Juan¹, LU Xing¹ and WEN Hua¹

(1. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China;

2. Freshwater Aquaculture Collaborative Innovative Centre of Hubei Province, Wuhan 430070, China;

3. Department of Aquaculture, College of Animal Science, Yangtze University, Jingzhou 434020, China)

Abstract: To investigate effects of high energy diets on serum biochemical indices of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*), grass carp [$N=320$, average initial body weight=(55.0 ± 2.5) g] were randomly assigned into 4 groups with 4 replicates for each group ($N=20$ fish/replicate) to fed three times daily to satiation with the control diet (CON) and three high energy diets for 11 weeks. The 3 high energy diets were 11% increased protein, 11% increased fat or 11% increased Carbohydrate compared to the control diet, respectively. The fish were fasted for 48h and then refed a single meal for 0, 2, 8, or 24 hours before collection for analyzing eight serum biochemical indices. Statistical analysis using two-way ANOVA showed that seven serum biochemical indices except total cholesterol (TCHO) were significantly affected by refeeding time, and all 8 biochemical indices were significantly affected by the different diets. Peak values of glucose (GLU) contents and aspartate transaminase (AST) activities presented at 2h after refeeding, and peak values of alanine transaminase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) activities and low density lipoprotein-cholesterol (LDLC) contents appeared at 24h after refeeding. The peak value of triacylglycerol (TAG) content occurred at 8h after refeeding, but there was no obvious peak value for serum TCHO or high density lipoprotein-cholesterol (HDLC) contents. At 24h after refeeding, compared with the CON diet, the higher energy diets had higher GLU contents and ALT activities but with similar activities of AST and ALP, and the contents of TAG, TCHO and HDLC. Our results demonstrated that both refeeding time and high energy diets regulated the serum biochemical indices, indicating that it is necessary to make sampling time synchronize in different groups for the accuracy of serum biochemical indices.

Key words: Serum biochemical indices; Sample time; High energy diets; *Ctenopharyngodon idella*